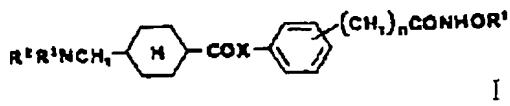


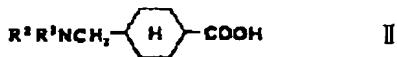
** SS 3: Results 1

prt fu img

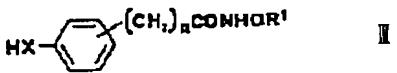
1/1 JAPIO - (C) JPO- image
CPIM Questel Orbit



I



II



III

PN - JP 04217950 A 19920807 [JP04217950]

TI - HYDROXAMIC ACID DERIVATIVE, ENZYME INHIBITOR AND ANTIULCER AGENT

IN - TAKAHASHI WATARU; OTSUBO KAZUMASA

PA - ASAHI CHEM IND CO LTD

AP - JP08285991 19910325 [1991JP-0082859]

PR - JP02 77056 19900328 [1990JP-0 77056]

IC1 - C07C-259/06

IC2 - A61K-031/16 A61K-031/165 C07C-259/10 C07C-327/32 C12N-009/99

AB - PURPOSE: To provide the subject new hydroxamic acid derivatives excellent in protease inhibitory effects and urease inhibitory effects, having a remarkable antiulcer activity and useful as an enzyme inhibitor and an antiulcer agent.

- CONSTITUTION: Hydroxamic acid derivatives of formula I [X is O, S or NH; R¹ is H, 1-5C alkyl, aryl or aralkyl; R² and R³ are H, 1-5C alkyl, guanyl, (substituted)aryl or (substituted)aralkyl; n is 0-5], e.g. 3-(4-hydroxyphenyl) propiohydroxamic acid. The compounds of formula I can be obtained by condensing an aminomethylcyclohexanecarboxylic acid of formula II or a reactive derivative thereof with a compound of formula III.

- COPYRIGHT: (C)1992, JPO&Japio

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平4-217950

(43)公開日 平成4年(1992)8月7日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 07 C 259/06		7330-4H		
A 61 K 31/16	ADU	8413-4C		
31/165		8413-4C		
C 07 C 259/10		7330-4H		
327/32		7375-4H		

審査請求 未請求 請求項の数3(全18頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願平3-82859	(71)出願人	000000033 旭化成工業株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号
(22)出願日	平成3年(1991)3月25日	(72)発明者	高橋 亘 宮崎県延岡市旭町6丁目4100番地 旭化成 工業株式会社内
(31)優先権主張番号	特願平2-77056	(72)発明者	大坪 一政 宮崎県延岡市旭町6丁目4100番地 旭化成 工業株式会社内
(32)優先日	平2(1990)3月28日	(74)代理人	弁理士 清水 猛 (外1名)
(33)優先権主張国	日本 (JP)		

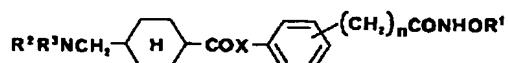
(54)【発明の名称】ヒドロキサム酸誘導体および酵素阻害剤ならびに抗潰瘍剤

(57)【要約】

【目的】蛋白分解酵素阻害活性とウレアーゼ阻害活性を併せ持つ物質、およびこれを有効成分とする抗潰瘍剤をはじめとする医薬品として有用な物質を提供する。

【構成】下記化1

【化1】



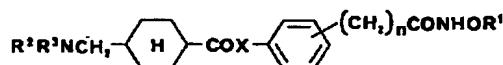
(式中、XはO、S、NHを表し、R¹、R²、R³は同一または異なってH、HN=C(NH₂)あるいは置換基を有してもよい炭素数1～5のアルキル基、アリール基、アラルキル基を表し、nは0～5の整数を表す。)で示されるヒドロキサム酸誘導体またはその薬学的に許容し得る塩。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記化1

【化1】



(式中、XはO、S、NHを表し、R¹はH、炭素数1～5のアルキル基、アリール基あるいはアラルキル基を表し、R²、R³は同一または異なるH、炭素数1～5のアルキル基、グアニル基、あるいは置換基を有してもよいアリール基またはアラルキル基を表し、nは0～5の整数を表す。)で示されるヒドロキサム酸誘導体またはその薬学的に許容し得る塩。

【請求項2】 前記化1で示されるヒドロキサム酸誘導体またはその薬学的に許容し得る塩を有効成分として含有する酵素阻害剤。

【請求項3】 前記化1で示されるヒドロキサム酸誘導体またはその薬学的に許容し得る塩を有効成分として含有する抗潰瘍剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、新規なヒドロキサム酸誘導体に関し、さらに詳しくは、蛋白分解酵素阻害活性とウレアーゼ阻害活性を併せ持つヒドロキサム酸誘導体またはその薬学的に使用できる塩、およびこれを有効成分として含有する酵素阻害剤ならびに抗潰瘍剤に関する。

【0002】

【従来の技術】 生体内には数多くの酵素が存在しており、様々な疾患との関連が知られている。例えば、プラスミン、トリプシン、カリクレイン等の蛋白分解酵素も例外ではなく、何らかの理由によって異常に活性化されると、種々の疾患を誘発することが知られている。例えば、血液中にプラスミンが多量に存在すると出血性疾患を生じる。また、プラスミンは胃潰瘍の発生あるいは進行に関与することが知られている〔日本消化器病学会大会講演要旨集 1988, P 2094, Japan. J. Pharmacol. 50, 72 (1989)〕。したがって、これらの蛋白分解酵素を阻害する活性を有する物質は、様々な疾患の治療薬として有用であり、従来よりその開発が検討されてきた。例えば、抗プラスミン剤は、止血剤、抗潰瘍剤、抗炎症剤として有用であり、抗トリプシン剤は肺炎治療剤として、また、抗カリクレイン剤は抗潰瘍剤などとして有用である。

【0003】 一方、蛋白分解酵素と共に疾患との関連が知られている酵素にウレアーゼがある。ウレアーゼは尿素をアンモニアと二酸化炭素に分解する酵素であるが、哺乳動物において検出されるウレアーゼ活性は、共生あるいは感染した微生物由来であることが知られている。

さらに、ウレアーゼと疾患との関連については、例え

2

ば、プロテウス ミラビリス感染による尿路結石症があり、また近年、慢性胃炎、胃潰瘍の発症や進行に強力なウレアーゼ活性を有するヘリコバクター ピロリが関与していることが示唆される〔例えば、J. Clinical Microbiology 26, 5, P831 (1988)、治療 71巻 10号 P 2093 (1989)〕。

【0004】 しかし、ウレアーゼ阻害剤の医薬品への応用については、アセトヒドロキサム酸を尿路結石症治療剤に使用する試みがなされているにすぎない。本発明の化合物に比較的構造の近い物質としては、セトラキサートやトラネキサム酸などが知られている。しかし、これらの物質は、抗プラスミン活性などの蛋白分解酵素阻害活性を有しているもので、抗ウレアーゼ活性を併せ持つ物質は知られていない。さらに、現在市販されている抗潰瘍剤の中には、抗ウレアーゼ活性を持つものはない。

【0005】 一方、抗潰瘍剤としては、数多くの薬剤が知られ、かつ、販売されている。例えば、防御型抗潰瘍剤の塩酸セトラキサートや胃酸分泌抑制作用を持つH₂受容体拮抗薬であるシメチジンが代表例として挙げられる。しかし、塩酸セトラキサートの抗潰瘍活性は、特に慢性潰瘍に対して必ずしも満足するものではないため、主にシメチジンなどの胃酸分泌抑制剤との併用療法が必要となる。また、シメチジンは、強力な胃酸分泌抑制作用を有しており、潰瘍の治癒率も上昇を可能にしたが、抗男性ホルモン作用、無顆粒球症などの副作用が認められ、さらに、潰瘍の再発、慢性化、抵抗性潰瘍の発生といった問題もある。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】 本発明は、かかる従来技術の問題点を解決して、蛋白分解酵素阻害活性とウレアーゼ阻害活性を併せ持つ物質、およびこれを有効成分とする抗潰瘍剤をはじめとする医薬品として有用な物質を提供することを目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、前記の課題を解決するため鋭意検討を重ねた結果、新規のヒドロキサム酸誘導体が優れた蛋白分解酵素阻害活性およびウレアーゼ阻害活性、さらに、強力な抗潰瘍活性を有することを見いだし、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は、前記化1で示されるヒドロキサム酸誘導体またはその薬学的に許容し得る塩を有効成分として含有する酵素阻害剤および抗潰瘍剤を提供せんとするものである。

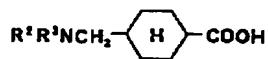
【0008】 上記の薬学的に許容し得る塩基性部分の塩として、例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩などの無機酸塩、また、コハク酸塩、クエン酸塩、メシル酸塩、トルエンスルホン酸塩などの有機酸塩を挙げることができ、さらに、酸性基部分の塩としては、例えば、アンモニウム、ナトリウム、カリウムなどの無機塩や、トリエチルアミン、ピリジンなどの有機塩を挙げることが

できる。

【0009】化1で示される新規ヒドロキサム酸誘導体には、シストラヌス異性体が含まれるが、トランス体が特に好ましい。化1におけるR¹、R²およびR³としては、水素原子、HN=C(NH₂)基の他に、例えば、メチル基、エチル基、イソプロピル基、t-ブチル基などのような炭素数1から5までのアルキル基、例えば、フェニル基、ナフチル基、トリル基などのアリール基、例えば、ベンジル基、フェネチル基、p-メチルベンジル基などのアルキル部分の炭素数1から5までのアラルキル基などが挙げられる。この場合、アルキル基、アリール基、アラルキル基は官能基を有してもよく、官能基としては、一置換から三置換までの、例えば、フッ素基、塩素基、臭素基などのハロゲン基、例えば、メトキシ基、エトキシ基、イソプロポキシ基などの炭素数1から5までのアルコキシ基、カルボキシル基、例えば、メトキカルボニル基、エトキカルボニル基、イソプロポキシカルボニル基などの炭素数1から5までのアルコキシカルボニル基、ニトロ基、アミノ基、ヒドロキシアミノカルボニル基、アミノカルボニル基などが挙げられる。化1で示される本発明化合物は、下記化2

【0010】

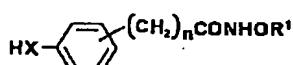
【化2】



(式中、R¹、R²は前述と同意味を表す。)で示されるアミノメチルシクロヘキサンカルボン酸またはその反応性誘導体に、下記化3

【0011】

【化3】



(式中、X、R¹、nは前述と同意味を表す。)で示される化合物を縮合反応させることによって製造される。

【0012】前記化2のアミノメチルシクロヘキサンカルボン酸の反応性誘導体としては、例えば、酸クロリド、酸プロミドなどの酸ハライドモ、混合酸無水物、p-ニトロフェニルエステル、2, 4-ジニトロフェニルエステルなどの活性エステルが挙げられる。

【0013】目的とするヒドロキサム酸誘導体のR²及びR³がHの場合は、アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸のアミノ基は、通常一級アミン基に使用されるウレタン型、アミド型などの保護基、特に好ましくは、水素添加によって容易に脱保護できるベンジロキシカルボニル基、あるいは酸分解によって容易に脱保護できるtert-ブチルカルボニル基で保護した後に、前記化3の化合物と縮合反応させ、さらに、脱保護して前記化1のヒドロキサム酸誘導体を製造することが、反応選択性

および収率の向上のために望ましい。

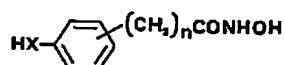
【0014】この場合、保護基の導入は、通常用いられる方法【例えば、Greene著「Protective Groups in Organic Synthesis」第218～287頁(1981年)参照】によって、特に好ましくは、求核性のない2級あるいは3級塩基、例えば、トリエチルアミン、ジイソプロピルアミン、ピリジンなどの有機塩基の存在下、酸ハロゲン化物とアミノメチルシクロヘキサンカルボン酸を反応させる方法によって、容易に行うことが可能である。

【0015】また、目的とするヒドロキサム酸誘導体のR¹がHの場合は、前記化3で示される化合物のR¹を通常ヒドロキシ基に使用される保護基、特に好ましくは、水素添加によって容易に脱保護できるベンジル基で保護し、前記化2の反応性誘導体と縮合反応の後に、脱保護して前記化1のヒドロキサム酸誘導体を製造することも可能である。

【0016】この場合、保護基の導入は、通常用いられる方法【例えば、Greene著「Protective Groups in Organic Synthesis」第10～50頁(1981年)参照】によって、特に好ましくは、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムなどの無機塩基、あるいはトリエチルアミン、ジイソプロピルアミン、ピリジンなどの有機塩基の存在下、ハロゲン化物と下記化4

【0017】

【化4】



(式中、X、nは前述と同意味を表す。)で示される化合物を反応させる方法によって、容易に行うことが可能である。

【0018】縮合反応は、例えば、酸性触媒あるいはN, N'-ジジクロヘキシカルボジイミドなどの脱水縮合剤によっても行えるが、本発明においては、簡便かつ高収率で縮合反応を行える前記化2のアミノメチルシクロヘキサンカルボン酸の反応性誘導体を用いる方法が望ましい。反応は不活性な溶媒の存在下実施されるが、好ましくはベンゼン、THF、1, 4-ジオキサンが望ましい。反応性誘導体を用いる縮合反応においては、反応の選択性、収率の向上のために、求核性のない2級あるいは3級塩基、例えば、トリエチルアミン、ジイソプロピルアミン、ピリジンなどの有機塩基の存在下に行うのが望ましく、この場合、有機塩基の使用量は、アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸誘導体に対して1当量～10当量、特に好ましくは1当量～3当量である。反応温度は、例えば-5℃～20℃、好ましくは副反応を抑制するため、-30℃～20℃で行われる。

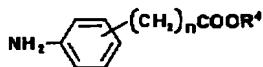
【0019】保護されたヒドロキサム酸誘導体の脱保護反応は、通常用いられる方法【例えば、Greene著「Protective Groups in Organic Synthesis」第10～50頁

あるいは第218～287頁(1981年)参照]を用いて、酸性、アルカリ性化合物によって、あるいは水素添加によって行われるが、温和な条件で、かつ、常圧下で脱保護が可能である水素添加または酸分解が望ましい。水素添加に使用される触媒としては、均一系触媒あるいは不均一系触媒を用いることが可能であるが、本発明においては、簡便かつ高収率で脱保護できる不均一系触媒、例えば、パラジウム-カーボン、パラジウム-黒などを用いることが望ましい。また、酸分解に使用される酸は、例えば、臭化水素、塩酸、硫酸、硝酸などの無機酸、例えば、酢酸、p-トルエンスルホン酸、メタノスルホン酸などの有機酸が挙げられるが、簡便かつ高収率で脱保護できる臭化水素を用いる方法が望ましい。

【0020】また、前記化1においてXがNHであるヒドロキサム酸化合物の製造の場合は、前記化2で示されるアミノメチルシクロヘキサンカルボン酸の反応性誘導体と下記化5

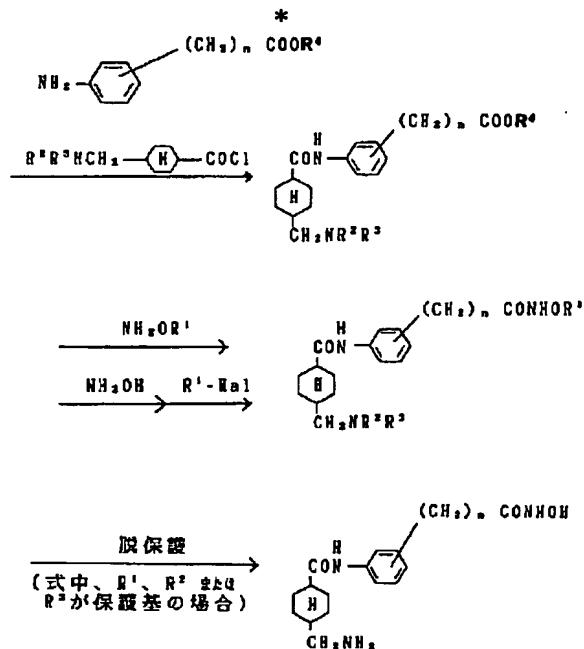
【0021】

【化5】



20 【0024】

【化8】



(式中、n、R¹、R²、R³、R⁴、H₂Halは前述と同意味を表す。)

【0025】また、本発明の化合物(化1)において、式中、R¹がアリールメチル基、すなわち、ベンジル基、p-メチルベンジル基、ジフェニルメチル基などであり、かつ、R²あるいはR³の保護基がベンジロキシカルボニル基であるヒドロキサム酸誘導体を脱保護するには、アミノ基の保護基のみを選択的に脱保護するため

* (式中、nは前述と同意味を表し、R¹は例えば、メチル基、エチル基などのような炭素数1から5までのアルキル基、p-ニトロフェニル基、2,4-ジニトロフェニル基などのような脱離能の高い置換基を表す。)で示される化合物を縮合反応させた後に、下記化6

【0022】化6

NH₂ OR¹

(式中、R¹は前述と同意味を表す。)で示される化合物と反応させるか、あるいはNH₂ OHで示されるヒドロキシルアミンと反応させた後に、さらに、下記化7

【0023】化7

R¹-H₂Hal

(式中、R¹は前述と同意味を表す。)で示される化合物を、求核性のない二級あるいは三級塩基、例えば、トリエチルアミン、ジイソプロピルアミン、ピリジンなどのような塩基の存在下反応させ、所望であるならば脱保護して、前記化1のヒドロキサム酸誘導体を製造することも可能である。(下記化8で示す反応式参照)

20 【0024】

【化8】

に、臭化水素酢酸溶液を使用することが可能である。このとき、酢酸溶液に含有されている臭化水素の使用量は、保護されたヒドロキサム酸誘導体に対して1当量～100当量、特に好ましくは3当量～30当量である。反応温度は、例えば-20℃～50℃、好ましくは副反応を抑制するため、0℃～30℃で行われる。

【0026】また、前記化1において、R²あるいはR³がNH=C(NH₂)基であるグアニジノ化合物を

製造する場合は、前記化1のR²あるいはR³が水素原子で示されるヒドロキサム酸誘導体に、一般的に用いられるグアニジノ化剤を反応させ製造することが可能であるが、好ましくは反応の選択性、試薬入手の容易性から、2-メチル-2-チオブソノイド尿素を用いることが望ましい。グアニジノ化剤の使用量は、ヒドロキサム酸誘導体に対して1当量～10当量、特に好ましくは1当量～5当量である。反応は、不活性な溶媒の存在下実施されるが、好ましくは水、メタノール、エタノールなどが望ましい。反応温度は、例えば、0℃～100℃、好ましくは10℃～30℃で行われる。

【0027】また、前記化1において、R¹、R²およびR³のアルキル基、アリール基、あるいはアラルキル基に置換している官能基は、前記化1の基本骨格に影響を及ぼさない範囲で、それ自体公知の反応、例えば、還元、加水分解、アミノ化などの反応を用いて、官能基変換をすることも可能である。

【0028】還元を用いる官能基変換としては、例えば、前記化1においてアルキル基、アリール基、アラルキル基に置換したニトロ基を、亜鉛あるいは鉄存在下、無機酸または有機酸、好ましくは塩酸を用いてアミノ基に変換することが可能である。この場合、塩酸の使用量は、ニトロ化合物に対して1当量～100当量、特に好ましくは5当量～50当量であり、金属の使用量は1当量～100当量、特に好ましくは5当量～50当量である。反応は、不活性な溶媒の存在下実施されるが、好ましくは水、メタノール、エタノール、1, 4-ジオキサンなどが望ましい。反応温度は、例えば0℃～100℃、好ましくは10℃～30℃で行われる。

【0029】また、還元を用いるアリールメトキシカルボニル基から、カルボキシル基への変換としては、例えば、ベンジロキシカルボニル基を還元触媒存在下、水素添加によって行うことが可能である。このとき使用される触媒としては、均一系触媒あるいは不均一系触媒を用いることが可能であるが、本発明においては、簡便かつ高収率で脱保護できる不均一系触媒、例えば、パラジウム-カーボン、パラジウム-黒などを用いることが望ましい。触媒の使用量は、ヒドロキサム酸誘導体に対して0.1重量%～100重量%、好ましくは反応を迅速かつ円滑に進めるために、5重量%～30重量%使用することが望ましい。反応は不活性な溶媒の存在下実施されるが、好ましくは酢酸、DMFが望ましい。反応温度は、例えば0℃～200℃、好ましくは副反応を抑制するため、10℃～20℃で行われる。

【0030】加水分解を用いる官能基変換としては、例えば、前記化1においてアルキル基、アリール基、アラルキル基に置換したアルコキシカルボニル基を、酸またはアルカリの存在下、好ましくは水酸化ナトリウム、水酸化カリウムを用いてカルボキシル基に変換することも可能である。この場合、水酸化ナトリウム、水酸化カリ

ウムの使用量は、アルコキシカルボニル化合物に対して1当量～5当量、特に好ましくは1当量～2当量である。反応は、不活性な溶媒の存在下実施されるが、好ましくは水、メタノール、エタノールなどが望ましい。反応温度は、例えば0℃～100℃、好ましくは10℃～30℃で行われる。

【0031】本発明の化合物の単離精製は、例えば、再結晶、クロマトグラフィーなどの公知の技術によって容易に行うことができる。本発明の化1の化合物またはその塩を抗潰瘍剤として用いる場合、投与形態としては、経口投与あるいは非経口投与のいずれでもよい。投与量は投与方法、症状、年齢などにより異なるが、化1の化合物として1回量約0.1～30mg/kg体重程度、一日1～3回程度投与するのが望ましい。化1の化合物またはその塩は、通常、製剤用担体として調製した製剤の形で投与される。

【0032】製剤用担体としては、製剤分野において常用され、かつ、化1の化合物またはその塩と反応しない物質、例えば、ゼラチン、乳糖、デンプン、結晶セルロース、カルボキシメチルセルロース、植物油、軽質無水ケイ酸、プロピレングリコールなどが挙げられる。

【0033】剤型としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤などの固体製剤、またはシロップ、エリキシル剤、注射剤などの液体製剤が挙げられる。これらの製剤は、常法によって調製される。また、錠剤は周知の方法でコーティングしてもよい。注射剤の場合には、前記化1の化合物またはその塩を水に溶解させて調製するが、必要に応じて生理食塩水あるいはブドウ糖溶液に溶解させてもよい。

【0034】

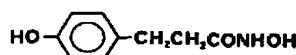
【実施例】以下に実施例を挙げて本発明を具体的に説明するが、本発明は、これらに限定されるものではない。

実施例1

3-(4-ヒドロキシフェニル)プロピオンヒドロキサム酸(下記化9)の合成

【0035】

【化9】



【0036】水酸化ナトリウム38.78g(0.97mol)を水140mlに溶解し、これにヒドロキシアミン塩酸塩28.9g(0.42mol)の水溶液210mlを5℃で加えた。これにジオキサン140mlに溶かした3-(4-ヒドロキシフェニル)プロピオン酸メチル49.86g(0.28mol)を加え、徐々に室温まで昇温し、2時間反応させた。反応終了後、濃塩酸でpH1.5にし、結晶を濾別し、水で洗浄した。この結晶を熱水から再結晶し、真空乾燥することにより3-(4-ヒドロキシフェニル)プロピオンヒドロキサム酸42.51g(0.23mol)収率84.8%を得た。

9

【0037】IR (KBr) : 3200, 1630, 1520, 1220cm⁻¹
 NMR (DMSO-d₆) δ : 2.17 (t, 2H), 2.70 (t, 2H), 6.57 (d, 2H), 6.90 (d, 2H), 8.57 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 10.20 (s, 1H)

塩化第一鉄呈色反応: 陽性

【0038】4-(2-(ベンジロキシアミノカルボニル)エチル)フェノール (下記化10) の合成

【0039】

【化10】



【0040】水酸化ナトリウム 9.08 g (0.23 mol) をエタノール 45.4 ml に溶解し、これに室温で 3-(4-ヒドロキシフェニル) ブロビオンヒドロキサム酸 41.09 g (0.23 mol) を加えた。ベンジルプロミド 38.82 g (0.23 mol) を滴下し、3 時間反応させた後に濃縮し、1 N-NaOH 700 ml で抽出し、クロロホルム 300 ml で 3 回洗浄した。水層に濃塩酸を加え、pH 1 に調整し、析出した結晶を水で洗浄した後に真空乾燥し、4-(2-(ベンジロキシアミノカルボニル)エチル)フェノール 54.38 g (0.20 mol) を収率 88.4% で得た。

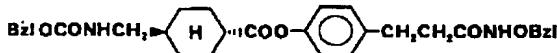
【0041】IR (KBr) : 3270, 1675, 1520, 1240cm⁻¹

NMR (DMSO-d₆) δ : 2.23 (t, 2H), 2.72 (t, 2H), 4.70 (s, 2H), 6.63 (d, 2H), 6.95 (d, 2H), 7.27 (s, 5H), 9.02 (b r, 1H), 10.77 (s, 1H)

【0042】t-4-N-ベンジロキシカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸-(4-(2-ベンジロキシアミノカルボニル)エチルフェニル)エステル (下記化11) の合成

【0043】

【化11】



【0044】t-4-N-ベンジロキシカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸 35.21 g (0.12 mol) を塩化チオニル 50 ml に加え、1 時間還流した。冷却後、反応液を濃縮し、残った結晶をベンゼン 200 ml を加え、THF 46.0 ml に溶かしたトリエチルアミン 14.44 ml (0.14 mol) および 4-(2-(ベンジロキシアミノカルボニル)エチル)フェノール 29.81 g (0.11 mol) 溶液に 0°C、6 時間で滴下した。滴下後、さらに 0.5 時間攪拌した後に、反応液に飽和炭酸水素水溶液を加え、水で洗浄した後に、ク

ロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、濃縮し、残った結晶を酢酸エチルから再結晶した。結晶を濾別し、真空乾燥して、t-4-N-ベンジロキシカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸-(4-(2-ベンジロキシアミノカルボニル)エチルフェニル)エステル 31.10 g (0.057 mol) を収率 52.04% で得た。

【0045】IR (KBr) : 3310, 3220, 2925, 1745, 1690, 1660, 1550, 1510, 1250cm⁻¹
 NMR (CDCl₃) δ : 0.7-3.3 (m, 16H), 4.73 (s, 2H), 5.05 (s, 2H), 5.0 (b r, 1H), 6.85 (d, 2H), 7.10 (d, 2H), 7.30 (s, 5H), 8.73 (b r, 1H)

【0046】t-4-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸-(4-(2-ヒドロキシアミノカルボニル)エチルフェニル)エステル・塩酸塩 (下記化12、以下、化合物1という) の合成

【0047】

【化12】



【0048】t-4-ベンジロキシカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸-(4-(2-ベンジロキシアミノカルボニル)エチルフェニル)エステル 0.46 g (0.84 mmol) を酢酸 2.5 ml に加え、Pd-B 100 mg 存在下、水素添加反応を行った。室温にて 4 時間攪拌後、Pd-B を濾別した。濾液を濃縮した後、濃塩酸 0.5 ml を加え、エタノールに溶解し、エーテルを滴下して結晶を析出させた。結晶を濾集、エーテルで洗浄後、真空乾燥し、t-4-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸-(4-(2-ヒドロキシアミノカルボニル)エチルフェニル)エステル・塩酸塩 0.30 g (0.72 mmol) を収率 86.6% で得た。

【0049】IR (KBr) : 3300, 3050, 2930, 1740, 1640, 1510, 1220cm⁻¹

NMR (DMSO-d₆) δ : 0.7-3.0 (m, 16H), 6.90 (d, 2H), 7.22 (d, 2H), 8.20 (b r, 4H), 9.40 (s, 1H), 10.48 (s, 1H)

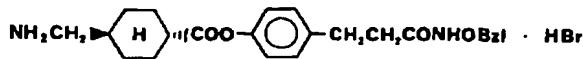
【0050】実施例2

t-4-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸-(4-(2-ベンジロキシアミノカルボニル)エチルフェニル)エステル・臭化水素塩 (下記化13、以下、化合物2という) の合成

【0051】

【化13】

11



【0052】 *t*-4-ベンジロキシカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸-（4-（2-ベンジロキシアミノカルボニル）エチルフェニル）-エステル1.00 g (1.83 mmol) に 25% 臭化水素酢酸溶液 10 ml を加えた。

【0053】 室温にて、1時間攪拌後、エーテル 40 ml を滴下して、結晶を析出させた。結晶を濾集、エーテルで洗浄後、エタノールから再結晶した。結晶を濾集、クロロホルムで洗浄後、真空乾燥し、*t*-4-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸-（4-（2-ベンジロキシアミノカルボニル）エチルフェニル）-エステル・臭化水素塩 0.17 g (0.35 mmol) を収率 19.3% で得た。

*

10

* 【0054】 IR (KBr) : 3150, 2920, 1650, 1750, 1600, 1520, 1210 cm⁻¹
NMR (DMSO-d₆) δ : 0.7-3.0 (m, 16 H), 4.67 (s, 2 H), 6.87 (d, 2 H), 7.15 (d, 2 H), 7.23 (s, 5 H), 7.83 (br, 3 H), 10.85 (s, 1 H)

【0055】 実施例3

t-4-N-ベンジロキシカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸-N'-(4-(2-メトキシカルボニル)エチルフェニル)-アミド (下記化14) の合成

【0056】

【化14】



【0057】 *t*-4-N-ベンジロキシカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸 6.5 g (22.32 mmol) を塩化チオニル 30 ml に加え、1時間還流した。冷却後、反応液を濃縮し、残った結晶に THF 112 ml およびトリエチルアミン 3.73 ml (26.78 mmol) を加え、これに 3-(4-アミノフェニル) プロピオン酸メチル 4.00 g (22.32 mmol) の THF 52 ml 溶液を 5°C、1時間で滴下した。滴下後、室温で1時間攪拌した後に、反応液を濃縮した。濃縮液をクロロホルムに溶解し、1N-NaOH、1N-HCl、水でそれぞれ洗浄した。クロロホルム層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、濃縮し、残った結晶をベンゼンから再結晶した。結晶を濾別し、真空乾燥して、*t*-4-N-ベンジロキシカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸-N'-(4-(2-メトキシカルボニル)エチル) -アミド 6.10 g を収率 60.4% で得た。

20

【0058】 IR (KBr) : 3320, 2930, 1740, 1700, 1685, 1600, 1540, 1250 cm⁻¹
NMR (CDCl₃) δ : 0.7-3.3 (m, 16 H), 3.63 (s, 3 H), 4.88 (br, 1 H), 5.07 (s, 2 H), 7.30 (s, 5 H), 7.0-7.6 (m, 5 H)

【0059】 *t*-4-N-ベンジロキシカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸-N'-(4-(2-ヒドロキシアミノカルボニル)エチルフェニル)-アミド (下記化15) の合成

【0060】

【化15】



【0061】 ヒドロキシアミン塩酸塩 1.22 g (17.68 mmol) をメタノール 18 ml に溶解し、これに水酸化カリウム 1.31 g (24.3 mmol) のメタノール溶液 12 ml を加えた。析出した結晶を濾過し、その濾液に *t*-4-N-ベンジロキシカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸-N'-(4-(2-メトキシカルボニル)エチルフェニル)-アミド 2 g (4.42 mmol) の DMF 15 ml 溶液を滴下した。18時間室温で攪拌後、析出した結晶を濾集し、水-酢酸から再結晶した。結晶を真空乾燥して、*t*-4-N-ベンジロキシカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸-N'-(4-(2-ヒドロキシアミノカルボニル)エチルフェニル)-アミド 1.03 g (2.28 mmol) を収率 51.6% で得た。

30

【0062】 IR (KBr) : 3300, 2930, 1690, 1660, 1525, 1260 cm⁻¹
NMR (DMSO-d₆) δ : 0.7-3.3 (m, 16 H), 3.20 (br, 1 H), 4.92 (s, 2 H), 6.92 (d, 2 H), 7.18 (s, 5 H), 7.35 (d, 2 H), 8.43 (s, 1 H), 9.40 (s, 1 H), 10.07 (s, 1 H)

塩化第一鉄呈色反応：陽性

【0063】 *t*-4-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸-N-(4-(2-ヒドロキシアミノカルボニル)エチルフェニル)-アミド・塩酸塩 (下記化16、以下、化合物3という) の合成

【0064】

【化16】

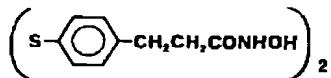
共沸還流下、脱水縮合反応を10時間行った。反応終了後、クロロホルムを加え、水、5%炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した後に濃縮し、4, 4'-ジチオビスベンゼンプロピオニ酸-(4, 4'-ジニトロビスフェニル)-エステル4.9. 88 g (0.08 mol) を収率82.5%で得た。

【0078】IR (NaCl) : 1760, 1605, 1595, 1530, 1350 cm⁻¹
NMR (CDCl₃) δ : 2.92 (t, 4H), 2.94 (t, 4H), 7.00 (d, 4H), 7.02 (d, 4H), 7.33 (d, 4H), 8.03 (d, 4H)

【0079】4, 4'-ジチオビスベンゼンプロピオニドロキサム酸(下記化20)の合成

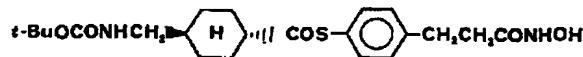
【0080】

【化20】



【0081】ヒドロキシアミン塩酸塩5.58 g (7.26 mmol) をジメチルスルホキシド100 mlに溶解し、トリエチルアミン15.43 g (152.52 mmol) を加えた。析出した結晶を濾別した後に、この濾液をジメチルスルホキシド100 mlに溶かした4, 4'-ジチオビスベンゼンプロピオニ酸-(4, 4'-ジニトロビスフェニル)-エステル15.67 g (25.00 mmol) に加え、2時間反応させた。反応終了後、水60 mlを加え、濃塩酸でpH1.5にし、結晶を濾別し、水で洗浄した。この結晶をイソプロパノールから再結晶し、真空乾燥することにより4, 4'-ジチオビスベンゼンプロピオニドロキサム酸7.95 g (20.2 mmol) 収率81.0%で得た。

【0082】IR (KBr) : 3300, 1650, 1*



【0089】t-4-N-tert.-ブトキシカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸1.04 g (4.06 mmol) およびトリエチルアミン0.57 ml (4.06 mmol) をTHF10 mlに加え、-15℃に冷却した。これにクロロホキ酸エチル0.39 ml (4.06 mmol) を滴下し、-15℃で20分間攪拌した。さらにこの反応液に、3-(4-メルカブトフェニル)プロピオニドロキサム酸0.80 g (4.06 mmol) およびトリエチルアミン0.57 ml (4.06 mmol) のTHF10 ml溶液を、30分間掛けて-15℃で滴下した。反応終了後、反応液を濃縮し、残留物をクロロホルムに溶解し、水、冷5%炭酸水素水溶液、冷1N-塩酸、さらに水で有機層を洗浄した。クロロホルム層を無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、濃縮し、残った結晶をメタ

* 520, 1220 cm⁻¹

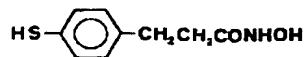
NMR (DMSO-d₆) δ : 1.90-3.00 (m, 8H), 6.80-7.70 (m, 8H), 8.70 (b, 2H), 10.27 (s, 2H)

塩化第一鉄呈色反応：陽性

【0083】3-(4-メルカブトフェニル)プロピオニドロキサム酸(下記化21)の合成

【0084】

【化21】



【0085】4, 4'-ジチオビスベンゼンプロピオニドロキサム酸5.00 g (12.74 mmol) を酢酸13 mlに溶解し、これに亜鉛1.61 g (24.70 mmol) を加え、4時間還流した。反応終了後、残渣を濾別した後に、この濾液に33%水酸化ナトリウム水溶液を加えアルカリ性にした後に、不溶物を濾別した。この濾液に濃塩酸を加えてpH1.5とし、析出した結晶を濾集した。さらに結晶をイソプロパノールから再結晶し、真空乾燥することにより3-(4-メルカブトフェニル)プロピオニドロキサム酸4.29 g (21.73 mmol) 収率85.3%で得た。

【0086】IR (KBr) : 3250, 2570, 1650, 1520, 1220 cm⁻¹

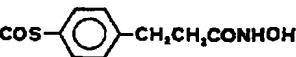
NMR (DMSO-d₆) δ : 2.00-3.00 (m, 4H), 6.70-7.70 (m, 4H), 9.00 (b, 2H), 10.30 (b, 1H)

塩化第一鉄呈色反応：陽性

【0087】t-4-N-tert.-ブトキシカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸-(4-(2-ヒドロキシアミノカルボニル)エチルフェニル)-チオエステル(下記化22)の合成

【0088】

【化22】



ノールー水から再結晶した。結晶を濾別し、真空乾燥して、t-4-N-tert.-ブトキシカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸-(4-(2-ヒドロキシアミノカルボニル)エチルフェニル)-チオエステル1.08 g (2.47 mmol) を収率60.84%で得た。

【0090】IR (KBr) : 3365, 2980, 1690, 1530, 1180 cm⁻¹

NMR (DMSO-d₆) δ : 0.7-3.3 (m, 16H), 1.43 (s, 9H), 4.50-5.10 (b, 1H), 6.00-7.00 (b, 1H), 7.00-7.50 (m, 4H), 10.00-10.50 (b, 1H)

塩化第一鉄呈色反応：陽性

17

【0091】 t-4-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸-(4-(2-ヒドロキシアミノカルボニル)エチルフェニル)-チオエステル・臭化水素塩 (下記化23、以下、化合物5という) の合成

[0092]

【化 2 3】



【0093】 $t-4-N-tert.$ -ブトキカルボキサミドメチルシクロヘキサンカルボン酸- $(4-(2-$ ヒドロキシアミノカルボニル)エチルフェニル)-チオエステル 1.00 g (2.29 mmol) に 2.5\% 氧化水素酢酸溶液 1.0 ml を加えた。室温にて 1 時間攪拌後、エーテル 4.0 ml を滴下して、結晶を析出させた。結晶を濾集、エーテルで洗浄後、エタノール-酢酸から再結晶し、 $t-4-$ アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸- $(4-(2-$ ヒドロキシアミノカルボニル)エチルフェニル)

10

ニル) - チオエステル・臭化水素塩 0.51 g (1.22 mmol) を収率 53.25 % で得た。

[0094] IR (KBr) : 3400, 3050, 2930, 1730, 1695, 1610, 1500 cm^{-1}
 NMR (DMSO-d₆) δ : 0.7-3.0 (m, 16H), 4.20-4.80 (b, 4H), 7.15-7.50 (m, 4H), 9.75-10.00 (b, 1H)

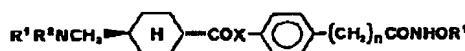
塩化第一鉄呈色反応：陽性

【0095】上記の実施例1～6に準じて、表1の化合物6～21を製造した。表1に各々の化合物の構造および物性値を示した。次に、官能基変換を用いる実施例7～9の方法を挙げた。得られた各々の化合物の構造および物性値を表1、化合物22～24に示した。

[0096]

〔卷1〕

17



化合物番号	R ¹	R ²	R ³	X	n	付加塩	IR吸収波数 (cm ⁻¹) KBr	NMRスペクトル δ ppm (DMSO- d_6)
6	H	H	H	O	1	HCl	3180, 2950, 1765, 1680, 1600, 1570, 1500, 1375, 1325, 1210, 1165, 1125	0.5 - 3.0 (m, 12H) 3.38 (s, 2H) 6.97 (d, 2H) 7.30 (d, 2H) 8.43 (b, 5H)
7	-	-	-	-	0	-	3430, 3210, 3050, 2950, 1760, 1660, 1605, 1495, 1220, 1175, 1130	0.5 - 3.1 (m, 12H) 3.4 (b, 1H) 7.17 (d, 2H) 7.85 (d, 2H) 8.0 - 9.3 (m, 9H) 10.67 (b, 1H)
8	-	Bt	Bt	-	2	-	3325, 3045, 2940, 1740, 1640, 1505, 1215	1.25 (t, 6H) 4.05 (q, 4H) 0.7 - 3.0 (16H, m) 6.90 (d, 2H) 7.20 (d, 2H) 8.30 (b, 3H)

(a)

化合物No	R ¹	R ²	R ³	X	n	付加塩	IR X ₁₃ cm ⁻¹ KBr	NMRスペクトル δ ppm (DMSO-d ₆)
9	H		H	O	2	HCl	3390, 3200, 2930, 2800, 1740, 1635, 1510, 1220	0.7-3.0(m, 16H), 4.10(s, 2H), 6.85(d, 2H), 7.15(d, 2H), 6.20-7.80(m, 5H), 8.50(b, 4H)
10	"		Cl-	"	"	"	3400, 3200, 2950, 2810, 1740, 1635, 1230	0.5-3.0(m, 16H), 4.38(s, 4H), 6.89(d, 2H), 7.21(d, 2H), 7.39(d, 4H), 7.79(d, 4H), 8.48(b, 3H)
11	"		MeO-	"	"	"	3400, 3200, 2940, 2810, 1735, 1640, 1260, 1225	0.5-3.0(m, 16H), 3.75(s, 6H), 4.40(s, 4H), 6.88(d, 2H), 7.19(d, 2H), 7.22(d, 4H), 7.80(d, 4H), 8.40(b, 3H)
12	"		NO ₂ -	"	"	"	3400, 3195, 2935, 1740, 1635, 1520, 1550, 1350, 1235	0.5-3.0(m, 16H), 4.42(s, 4H), 6.88(d, 2H), 7.19(d, 2H), 7.43(d, 4H), 7.83(d, 4H), 8.50(b, 3H)

(b)

化合物No	R ¹	R ²	R ³	X	n	付加塩	IR X ₁₃ cm ⁻¹ KBr	NMRスペクトル δ ppm (DMSO-d ₆)
13		BzI-OCOC-	BzI-OCOC-	O	2	HCl	3395, 3205, 2940, 1735, 1640, 1550, 1520, 1340, 1260, 1240	0.5-3.0(m, 16H), 4.22(s, 4H), 4.81(s, 4H), 5.10(s, 2H), 6.2-7.9(m, 27H), 8.52(b, 3H)
14	H			"	"	"	3405, 3205, 2940, 1740, 1650, 1635, 1520, 1220	0.5-3.0(m, 16H), 4.32(s, 4H), 6.86(d, 2H), 7.19(d, 2H), 7.40(d, 4H), 7.80(d, 4H), 8.48(b, 7H)
15	Et	H	H	"	"	HBr	3325, 3050, 2960, 1740, 1640, 1505, 1220	0.5-3.0(m, 16H), 1.30(t, 3H), 3.42(q, 2H), 5.89(d, 2H), 7.20(d, 2H), 8.22(b, 3H), 9.50(b, 1H)
16		"	"	"	"	"	3160, 2920, 1755, 1650, 1600, 1520, 1210	0.7-3.0(m, 16H), 4.82(s, 2H), 6.90(d, 2H), 7.19(d, 2H), 7.40(d, 2H), 7.82(d, 2H), 7.90(b, 3H), 10.7(b, 1H)

(一)

化合物No	R ¹	R ²	R ³	X	n	付加塩	IRスペクトル (cm ⁻¹) KBr	NMRスペクトル δ ppm (DMSO-d ₆)
17		H	H	O	1	HBr	3320, 3200, 2980, 1740, 1730, 1675, 1500, 1250	0.5-3.0(m, 12H) 3.33(s, 2H) 4.77(s, 2H) 6.62-8.72(m, 12H) 10.5(b, 1H)
18	-	-	-	-	0	-	3050, 2950, 1760, 1640, 1610, 1500, 1220, 1175, 1140	0.5-3.2(m, 12H) 4.94(s, 2H) 6.8-8.6(m, 12H) 11.0(b, 1H)
19	H	-	-	NH	1	HCl	3120, 1670, 1650, 1600, 1540, 1510, 1490, 1415, 1310, 1260, 1065	0.5-3.0(m, 12H) 3.23(s, 2H) 7.13(d, 2H) 7.52(d, 2H) 8.0(b, 4H) 9.83(s, 1H) 10.60(s, 1H)
20	-	-	-	-	0	-	3450, 3255, 2930, 1690, 1640, 1590, 1520, 1490	0.7-3.0(m, 12H) 3.5(b, 1H) 7.63(s, 4H) 8.63(b, 3H) 10.13(s, 1H) 11.00(b, 1H)

(二)

化合物No	R ¹	R ²	R ³	X	n	付加塩	IRスペクトル (cm ⁻¹) KBr	NMRスペクトル δ ppm (DMSO-d ₆)
21				O	2	HCl	3360, 3195, 2930, 1735, 1650, 1600, 1520, 1180	0.7-3.0(m, 16H) 4.42(s, 4H) 4.87(s, 2H) 6.88(d, 2H) 7.18(d, 2H) 6.2-7.8(m, 15H) 10.0(b, 1H)
22	H	NH ₂ -	NH ₂ -	"	"	"	3390, 3070, 2920, 2500, 1740, 1625, 1510, 1215	0.7-3.0(m, 16H) 6.43(d, 4H) 6.9(m, 6H) 7.24(d, 2H) 8.0(b, 7H) 10.3(b, 2H)
23	-	HOOC-	HOOC-	"	"	"	3420, 3250, 3060, 2970, 1700, 1680, 1650, 1605, 1520, 1215	0.7-3.0(m, 16H) 6.3-8.5(m, 13H) 10.3(b, 4H)
24	-	HN=C(NH ₂)	H	"	"	"	3350, 3200, 3030, 2930, 1745, 1650, 1520, 1210	0.7-3.0(m, 16H) 6.92(d, 2H) 7.20(d, 2H) 7.8(b, 5H) 9.8(b, 2H)

【0097】実施例7

化合物22の合成

化合物12のフリー体0.50g(0.85mmol)を酢酸25mlに加え、亜鉛粉末0.50g存在下、還流攪拌4時間反応を行った。反応終了後、残査を濾別した。濾液を濃縮した後、濃塩酸0.5mlを加え、エタノールに溶解し、エーテルを滴下して結晶を析出させた。結晶を濾集、エーテルで洗浄後、真空乾燥し、化合物22の塩酸塩0.26g(0.41mmol)を収率48.3%で得た。

【0098】実施例8

化合物23の合成

化合物13のフリー体0.65g(0.85mmol)を酢酸25mlに加え、Pd-B100mg存在下、水素添加反応を行った。室温にて6時間攪拌後、Pd-Bを濾別した。濾液を濃縮した後、濃塩酸0.5mlを加え、エタノールに溶解し、エーテルを滴下して結晶を析出させた。結晶を濾集、エーテルで洗浄後、真空乾燥し、化合物23の塩酸塩0.36g(0.58mmol)を収率68.7%で得た。

塩化第一鉄呈色反応：陽性

【0099】実施例9

化合物24の合成

化合物1のフリーボディ 0. 50 g (1. 56 mmol) および 2-メチル-2-チオブソイド尿素・1/2硫酸塩 0. 26 g (1. 90 mmol) を 2.8%アンモニア水 3ml に溶解し、室温にて8時間攪拌した。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、この液をクロロホルムで洗浄した後、濃縮し、エタノールで脱塩して粗結晶を得た。これをエタノールに溶解させた後、濃塩酸で酸性にし、白色結晶を析出させた。これを濾別、乾燥することによって化合物24の塩酸塩 0. 19 g (0. 47 mmol) を収率30. 3%で得た。

塩化第一鉄呈色反応：陽性

【0100】実施例10

酵素阻害活性測定

1) 抗プラスミン活性測定

阻害剤を 0. 05 M トライス塩酸緩衝液 (pH 7. 5) に溶解し全体を 0. 4ml として、ここに基質である 1. 15 mM の S-2251 溶液を 0. 1ml 加え、37℃の恒温槽中で 5 分間インキュベーションした。つづいてヒトプラスミン溶液 0. 1ml を添加し、37℃で 10 分間反応させた。2%クエン酸溶液 2ml を加えて反応を停止させた後、生成したパラニトロアニリンの吸光度を 405 nm で測定し、阻害剤を加えないときの 50% の吸光度を示す阻害濃度を IC₅₀ として求めた。

【0101】2) 抗カリクリein活性測定

阻害剤を 0. 05 M トライス塩酸緩衝液 (pH 7. 5) に溶解し全体を 0. 4ml として、ここに 1. 15 mM の S-2302 溶液を 0. 1ml 加え、37℃の恒温槽中で 5 分間インキュベーションした。つづいてブタの脾臓カリ

クリein 0. 1ユニット/ml 溶液 0. 1ml を添加し、37℃で 10 分間反応させた。2%クエン酸溶液 2ml を加えて反応を停止させた後、生成したパラニトロアニリンの吸光度を 405 nm で測定し、阻害剤を加えないときの 50% の吸光度を示す阻害濃度を IC₅₀ として求めた。

【0102】3) 抗トリプシン活性測定

阻害剤を 0. 05 M トライス塩酸緩衝液 (0. 1 M 塩化カルシウム含有、pH 8. 0) に溶解し全体を 0. 4ml として、ここに基質である 20 mM の TAME 溶液を 0. 1ml 加え、37℃の恒温槽中で 5 分間インキュベーションした。つづいてブタのトリプシン溶液 0. 1ml を添加し、37℃で 30 分間反応させた。90℃で 5 分間熱処理した後、未反応の TAME を Hestrin の方法 [J. Biol. Chem. 180, 249, (1949)] で定量し、阻害剤を加えないときの反応率の 50% を示す阻害濃度を IC₅₀ として求めた。

【0103】4) 抗ウレアーゼ活性測定

阻害剤を 0. 05 M リン酸緩衝液 (pH 7. 0) に溶解し全体を 0. 5ml として、ここに尿素の 50 mM の溶液を 0. 1ml 加え、37℃の恒温槽中で 5 分間インキュベーションした。つづいて 53 μg/ml のウレアーゼ溶液 (パチルス属由来) 0. 1ml を添加し、37℃で 10 分間反応させた。90℃で 5 分間熱処理した後、インドフェノール法で生成したアンモニア定量し、阻害剤を加えないときの 50% のアンモニア生成を示す阻害濃度を IC₅₀ として求めた。表 2 に本発明の化合物および対照物質の酵素阻害活性を示す (IC₅₀ : mM)

【0104】

【表2】

化合物番号	プラスミン	カリクレイン	トリプシン	ウレアーゼ
1	0.005	0.169	0.085	0.0013
2	0.0026	0.14	0.11	0.1
3	0.098	1.78	3.25	0.0012
4	151.3	85.2	255.5	0.0027
6	0.004	0.18	0.091	0.0012
7	0.008	0.16	0.11	0.0026

化合物番号	プラスミン	カリクレイン	トリプシン	ウレアーゼ
17	0.003	0.30	0.12	0.097
18	0.004	0.32	0.14	0.110
19	19.9	78.9	156.8	0.0018
5	0.098	0.121	1.89	0.0011
塩酸セトラ キサート	0.0129	1.99	0.12	6.46
トキサム酸	302.5	> 300	> 300	> 30
アセトヒド ロキサム酸	> 400	> 300	> 300	0.0229

答

【0105】表2に示すように、本発明の化合物は、強力な蛋白分解酵素阻害活性を有するだけでなく、極めて強力な抗ウレアーゼ活性を有していることがわかる。次40に、現在、市販されている抗潰瘍剤の抗ウレアーゼ活性の測定結果を表3に示す。

【0106】

【表3】

薬剤	I C ₅₀ (mM)
ソファルコン	> 20
テブレノン	> 20
プラノトゥール	> 20
シメチジン	> 20
塩酸ベネキサート	> 20
リンゴ酸クレボブリド	> 20

【0107】表3に示すように、本発明の化合物は、既存の市販されている抗潰瘍剤には見られない強力な抗ウレアーゼ活性を有していることが明らかである。

50 【0108】実施例11

潰瘍抑制試験

次に、本発明の化合物が消化性潰瘍の治療に有効であることを示すために、各種実験潰瘍モデルに対する効果を試験した。以下に実験方法と結果を示した。

1) 塩酸エタノール潰瘍

体重180g前後のSD系雄性ラットを1群8匹とし、24時間絶食した後、塩酸150mMの60%エタノール含有水溶液1ml/匹を経口投与した。塩酸エタノール投与1時間後に脱血致死せしめ胃を摘出し、2%ホルマ*

$$\text{抑制率} (\%) = \frac{\text{Control 群の平均潰瘍係数} - \text{薬物群の平均潰瘍係数}}{\text{Control 群の平均潰瘍係数}} \times 100$$

【0110】

*リン液10mlを胃内に注入後、さらに同液に10分間浸し軽度に固定した。胃を大嚢に沿って切開し、腺胃部に発生しているそれぞれの損傷を実体顕微鏡(10倍率)で観察し、その長さの総和(mm)をもって潰瘍係数とし、下記の計算式により抑制率を算出した。なお、被験薬剤は塩酸エタノール投与30分前に経口投与する。表4に本発明の化合物の投与量および潰瘍抑制率を示した。

【0109】

【表4】

(イ)

化合物番号	投与量 (mg/kg)	潰瘍抑制率 (%)
1	100	91.4
2	100	79.3
3	100	67.3
4	100	97.8
5	100	86.2
6	100	91.0
7	100	82.6
8	100	82.4
9	100	76.9
10	100	92.6
11	100	84.7
12	100	69.8
13	100	63.7
14	100	85.6
15	100	80.9
16	100	78.8
17	100	84.5
18	100	76.4

(ロ)

化合物番号	投与量 (mg/kg)	潰瘍抑制率 (%)
19	100	84.1
20	100	67.6
21	100	84.6
22	100	60.1
23	100	59.7
24	100	88.7
塩酸セトラ キサート	100	71.5

旨

【0111】2) インドメタシン潰瘍

体重180g前後のSD系雄性ラットを1群8匹とし、
24時間絶食した後、インドメタシン25mg/10ml/
kgを皮下投与した。インドメタシン投与5時間後に放血
致死させ、胃を摘出し、2%ホルマリン液10mlを胃内
に注入後、さらに、同液に10分間浸し軽度に固定し
た。胃を大弯に沿って切開し、腺胃部に発生しているそ

れぞれの損傷を実体顕微鏡(10倍率)で観察し、その
長さの総和 (mm) をもって潰瘍係数とし、前記の計算式
により抑制率を算出した。なお、被験薬剤はインドメタ
シン投与直前に経口投与する。表5に本発明の化合物の
投与量および潰瘍抑制率を示した。

【0112】

【表5】

化合物番号	投与量 (mg/kg)	潰瘍抑制率 (%)
1	100	81.6
2	100	68.4
3	100	74.6
4	100	82.8
5	100	82.7
塩酸セトラ キサート	100	72.8
テブレノン	100	54.5

【0113】3) 水浸拘束潰瘍

*とし、前記の計算式により抑制率を算出した。表6に本

24時間絶食したウイスター系雄性ラット(1群10-20)発明の化合物の投与量および潰瘍抑制率を示した。

四) に被験薬剤を経口投与し、30分後より7時間、2 【0114】

3°Cで水浸拘束を負荷した。胃粘膜を実体顕微鏡で観察

【表6】

し、ピラン性病変の長さの総和 (mm) をもって潰瘍係数*

化合物番号	投与量 (mg/kg)	潰瘍抑制率 (%)
1	100	72.9
2	100	50.1
4	100	75.2
5	100	66.1
8	100	73.8
24	100	76.6
テブレノン	100	24.7

【0115】以上の結果より、本発明の化合物は、強力な潰瘍抑制効果を有することが明らかである。

【0116】実施例12

急性毒性試験

体重25g前後のddY系雄性マウスを1群5匹とし、6時間絶食後使用した。被験薬物は水溶液または0.5%CMC水溶液に懸濁させ、0.2ml/10gの容量で経口投与した。投与後的一般症状および死亡発現の有無を7日間観察した。本発明の化1で示される化合物から選ばれた化合物(前記実施例で製造した化合物1~2 50

4)は、いずれも2000mg/kgの投与により死亡例がなく、中毒症状も認められることから、LD₅₀値は2000mg/kg以上と極めて安全性の高い薬物であると推定できる。

【0117】実施例13

錠剤の製剤例

実施例1で製造したt-4-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸-(4-(2-ヒドロキシアミノカルボニル)エチルフェル)-エステル・塩酸塩を例に取り、下記の処方により錠剤を製造した。

t-4-アミノメチルシクロヘキサンカルボン酸-(4-(2-ヒドロキシアミノカルボニル)エチルフェル)-エステル・塩酸塩	100mg
軽質無水ケイ酸	100mg
結晶セルロース	50mg
カルボキシメチルセルロースカルシウム	25mg
タルク	4mg
乳糖	69mg
ステアリン酸マグネシウム	2mg

常法にしたがって、上記成分を混和し顆粒状とし、圧縮成形して1錠350mgの錠剤を製造した。このような方法を用いて、本発明の種々の化合物を錠剤にすることができる。

【0118】

【発明の効果】本発明で得られる酵素阻害剤の有効成分である前記化1のヒドロキサム酸誘導体は、前記の実験結果から明らかなように、プラスミン、カリクレイン、トリプシンおよびウレアーゼに対し強力な阻害活性を有する。

【0119】本発明の化合物は、従来公知の薬剤、例え

ば、セトラキサートやトラネキサム酸などと異なり、蛋白分解酵素だけでなく、ウレアーゼも強力に阻害する。したがって、本発明で得られる酵素阻害剤は、止血剤、抗炎症剤としてだけでなく、新しい機能、すなわち、胃粘膜におけるヘリコバクター由来のウレアーゼを阻害し、防御する機能を持った抗潰瘍剤として極めて有用である。本発明は、詳細に、かつ、特にその具体化において実施例を以て述べてきたが、本発明の精神と範囲から外れることがないならば、本発明の中で各種の変化や変更ができるることは、この技術分野の者には明らかであろう。

フロントページの続き

(51) Int.Cl.⁵

識別記号 庁内整理番号

F I

技術表示箇所

C 12 N 9/99